ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

<http://ecobiotech-journal.ru>

МИНИОБЗОР

СНИЖЕНИЕ УРОВНЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ В УСЛОВИЯХ ЗАСУХИ

Аллагулова Ч.Р., Ласточкина О.В.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, г. Уфа, Россия

E-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

Проведен анализ литературных данных о снижении степени окислительного стресса в растениях пшеницы в условиях засухи под влиянием полезных рост-стимулирующих бактерий (*PGPB* – plant growth promoting bacteria). Особого внимания заслуживают эндофитные бактерии *Bacillus subtilis*, колонизирующие внутренние ткани растений-хозяев, оказывающих положительное влияние на их метаболизм в ходе всего онтогенеза и сохраняющих защитный потенциал в послеуборочный период. Эндофитные бактерии способны улучшать усвоение элементов минерального питания растениями, продуцировать широкий спектр биологически активных веществ, включая витамины и фитогормоны. С гормональной активностью *PGPB* связывают их способность запускать осмопротекторную и антиоксидантную системы защиты растений, вносящих важный вклад в поддержание водного баланса растений и нейтрализацию активных форм кислорода при стрессе. Имеются многочисленные данные о *PGPB*-индуцированном повышении активности антиоксидантных ферментов (пероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы и др.) и накоплении антиоксидантов неферментативной природы (пролин, цистеин, глутатион) в растениях пшеницы. Обсуждается участие трегалозы в проявлении защитных свойств эндофитных бактерий при засухе.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., активные формы кислорода, антиоксидантная система, засуха, окислительный стресс, пролин, рост-стимулирующие бактерии (*PGPB*), трегалоза

ALLEVIATION OF DROUGHT-INDUCED OXIDATIVE STRESS IN WHEAT PLANTS UNDER THE INFLUENCE OF ENDOPHYTIC BACTERIA

Allagulova Ch.R., Lastochkina O.V.

Institute of Biochemistry and Genetics of the Ufa Federal Research Centre of RAS, Ufa, Russia

E-mail: allagulova-chulpan@rambler.ru

An analysis of the literature data on the alleviation of drought-induced oxidative stress in wheat plants under the influence of plant growth-promoting bacteria (*PGPB*) is carried out. Particular attention in this mini-review is given to the endophytic bacteria *Bacillus subtilis*, since they are able to colonize the internal tissues of host plants and have a beneficial effect on their metabolism during ontogenesis as well as maintain the protective potential in the post-harvest period. Endophytic bacteria are able to improve the assimilation of mineral nutrients elements by plants, can produce a wide spectrum of biologically active compounds, including vitamins and phytohormones. The hormonal activity of endophytic bacteria is associated with their ability to trigger osmoprotectant and antioxidant defense systems in plants, which make an important contribution to maintaining the water balance of plants and neutralizing reactive oxygen species (ROS) during stress. There are numerous data on *PGPB*-induced increase in the activity of antioxidant enzymes (peroxidase, catalase, superoxide dismutase, etc.) and the accumulation of non-enzymatic antioxidants (proline, cysteine, glutathione) in wheat plants. The participation of trehalose in the protective effect of endophytic bacteria during drought is also discussed.

Keywords: *Triticum aestivum* L., reactive oxygen species, antioxidant system, drought, oxidative stress, proline, plant growth-promoting bacteria (*PGPB*), trehalose

Поступила в редакцию: 22.04.2020

DOI: [10.31163/2618-964X-2020-3-2-129-134](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2020-3-2-129-134)

В естественной среде обитания рост и развитие растений происходит в условиях постоянных изменений внешних факторов, способных оказывать неблагоприятное воздействие на растительный организм. Наиболее широко распространенным стрессом, затрагивающим все звенья метаболизма растений, является засуха, вызывающая усиление интенсивности транспирации и дыхания, снижение фотосинтетической активности водоудерживающей способности тканей, что приводит к существенному торможению роста

растений и ускорению перехода их онтогенеза к этапу старения [Osakabe et al., 2014]. В зерновых культурах, в частности у пшеницы на фоне падения аттрагирующей способности колосьев, наблюдается уменьшение их размеров и выполненности, а также количества зерен, что в целом негативно сказывается на продуктивности пшеницы. Для предотвращения потерь урожая в практике традиционно используются агрохимикаты, представляющие серьезную угрозу для человека и окружающей среды. В качестве альтернативы химическим препаратам все более широкое применение находят биопрепараты, основанные на использовании культур полезных рост-стимулирующих бактерий (*PGPB* – plant growth-promoting bacteria), характеризующихся также свойствами индукторов устойчивости растений к стрессовым факторам биотической и абиотической природы, включая засуху. Особый интерес представляют эндофитные бактерии *Bacillus subtilis*, способные колонизировать ткани растений-хозяев и изнутри влиять на их метаболизм в ходе всего онтогенеза, сохраняя защитный потенциал в послеуборочный период [Lastochkina et al., 2019]. В основе реализации рост-стимулирующего и защитного действия эндофитных бактерий на растения лежат множественные механизмы (рисунок).

Рисунок. Основные механизмы протекторного действия *Bacillus subtilis* на растения в условиях воздействия засухи. АБК – абсцизовая кислота, АК – аскорбиновая кислота, АПО – аскорбатпероксидаза, АФК – активные формы кислорода, ГР – глутатионредуктаза, КАТ – каталаза, ОСВ – относительное содержание воды, ПО – пероксидаза, СОД – супероксиддисмутаза, Cys – цистеин, *PGPB* – plants growth promoting bacteria.

Важнейшими из них являются способность оказывать влияние на состояние гормональной системы своих растений-хозяев, улучшать усвоение ими элементов минерального питания, а также самим продуцировать широкий спектр биологически активных соединений (биосурфактантов, сидерофоров, витаминов) и веществ с гормональной активностью [Кудоярова и др., 2011; Максимов и др., 2015; Lastochkina et al., 2019].

К настоящему времени в литературе накоплены многочисленные данные об индуцированном *Bacillus subtilis* повышении устойчивости пшеницы к засухе,

обусловленным их способностью оказывать влияние на содержание фитогормонов в растениях пшеницы и самим синтезировать ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую (АБК), салициловую и жасмоновую кислоты, а также этилен [Sgroy et al., 2009; Кудоярова и др., 2011; Максимов и др., 2015; Lastochkina et al., 2019]. Обнаружено, что синтезирующие индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) *B. subtilis* 104 стимулировали процессы образования и роста корней пшеницы, усиливая тем самым процесс поглощения воды и питательных веществ в условиях водного стресса [Lastochkina et al., 2017]. Введение в прикорневую среду проростков пшеницы цитокинин-продуцирующих штаммов *B. subtilis* IB-22 приводило к значительному увеличению содержания гормонов цитокининовой природы в побегах проростков, сопровождавшемуся повышением скорости роста листьев и стимуляцией накопления сырой и сухой массы побегов [Мартыненко, Архипова, 2010]. Для эндофитных бактерий *B. subtilis* 11ВМ, оказывающих рост-стимулирующий эффект на растения пшеницы, выявлена гиббереллин-подобная активность [Егоршина и др., 2012]. Инокуляция АБК продуцирующими бактериями рода *Azospirillum* оптимизировала водный обмен арабидопсиса в условиях засухи [Cohen et al., 2015]. Одним из механизмов, который используется бактериями для стимуляции роста растений, является снижение в них уровня этилена путем дезаминирования его непосредственного предшественника – 1-аминоциклопропан-1-карбоксилата (АЦК), являющегося источником питания для ряда *PGPB* [Кудоярова и др., 2011; Lastochkina et al., 2019]. Продуцирующие АЦК-деаминазу бактерии способствовали поддержанию скорости роста корней и побегов и накоплению биомассы растений, подвергнутых водному стрессу [Saikia et al., 2018].

Предполагается, что гормональная активность эндофитных бактерий обуславливает их способность запускать осмопротекторную и антиоксидантную системы защиты растений, вносящих важный вклад в поддержание водного баланса растений и нейтрализацию активных форм кислорода (АФК) в неблагоприятных условиях [Kohler et al., 2010; Hao et al., 2015; Lastochkina et al., 2019]. Хорошо известно, что засуха наряду с другими стрессами вызывает в растениях окислительный стресс, возникающий вследствие избыточной генерации АФК, таких как супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$), гидроксильный радикал ($OH^{\cdot}$), перекисные радикалы ($RO_2^{\cdot}$), перекись водорода (H_2O_2), синглетный кислород (1O_2) и др., обладающих чрезвычайно высокой реакционной способностью [Osakabe et al., 2014]. При нарушении баланса между образованием АФК и их нейтрализацией, свободные радикалы начинают самопроизвольно и неспецифически взаимодействовать с молекулярными клеточными компонентами, вызывая серьезные нарушения структуры и функций мембран, активности ферментов, мутагенезу, остановке клеточного цикла, что приводит к гибели клеток и всего организма в целом [Carvalho, 2008; Колупаев, Кокорев, 2019]. Обезвреживание АФК в растениях осуществляется антиоксидантной системой (АОС) защиты, все компоненты которой находятся в сложном функциональном взаимодействии, обеспечивая устойчивость растений к стресс-индуцируемым окислительным повреждениям [Колупаев, 2016; Колупаев, Кокорев, 2019]. АОС растений включает такие антиоксидантные ферменты, как пероксидаза (ПО), каталаза (КАТ), аскорбатпероксидаза (АПО), супероксиддисмутаза (СОД), глутатионредуктаза (ГР), а также компоненты неферментативной природы: аскорбиновая кислота, глутатион, цистеин, пролин [Kaushal, Wani, 2015; Колупаев и др., 2019].

К настоящему времени накоплены обширные сведения о способности *PGPB* запускать АОС защиты у своих растений-хозяев (рисунок). В частности, инокуляция корней пшеницы суспензией *Lactobacillus plantarum* вызывала активацию каталазы и повышение интегральной антиоксидантной емкости в проростках, нивелировала степень индуцируемого обезвоживанием окислительного стресса, регистрируемого по накоплению малонового

диальдегида (МДА) и H_2O_2 [Яруллина и др., 2014]. Растения томата, инокулированные эндофитными бактериями *Sphingomonas* sp. LK11, характеризовались повышением активности каталазы, полифенолоксидазы, а также усилением синтеза глутатиона, что в совокупности способствовало снижению в этих растениях стресс-индуцированного уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) и накопления МДА [Halo et al., 2015]. Обработка растений салата *Lactuca sativa* штаммами грамотрицательных бацилл *Pseudomonas mendocina* повышала их устойчивость к дефициту влаги, усиливая активность пероксидазы и каталазы [Kohler et al., 2010]. При инокуляции и ко-инокуляции с *Bacillus* sp. и *Arthrobacter pascens* в растениях кукурузы увеличивалось содержание сахаров и пролина и возрастала активность антиоксидантных ферментов: СОД, ПО, КАТ и АПО [Ullah, Bano, 2015]. Аналогичные сведения были получены при инокуляции растений пшеницы арбускулярной микоризой, при которой было выявлено увеличение содержания компонентов АОС защиты неферментативной природы, в частности пролина и свободных аминокислот, а также повышение активности ряда антиоксидантных ферментов, таких как ПО и КАТ [Khalafallah, Abo-Ghalia, 2008]. Авторы полагают, что колонизация микоризой способствует улучшению осмотической регуляции растений пшеницы при засухе, усиливает их АОС защиты и снижает окислительное повреждение клеток, что в совокупности приводит к повышению устойчивости пшеницы к засухе [Khalafallah, Abo-Ghalia, 2008]. Имеются данные о вовлечении бактерий *A. brasilense* NO40 и *B. amyloliquefaciens* 5113, оказывающих защитный эффект на растения пшеницы при засухе, в регуляцию активности гена аскорбатпероксидазы APX1 и ферментов аскорбат-глутатионового космплেকса [Kasim et al., 2013].

К числу соединений, характеризующихся ярко выраженной осмопротекторной и антиоксидантной активностью, относится гетероциклическая аминокислота пролин, занимающая особое положение среди низкомолекулярных антиоксидантов, т.к. её концентрация в растениях существенно возрастает в условиях засухи [Колупаев, 2016]. Накопление пролина в условиях стресса оказывает стабилизирующее действие на весь метаболизм растений, что проявляется в поддержании целостности мембранных структур и других клеточных компартментов, защите от денатурации белков и нуклеиновых кислот, предотвращении инактивации ферментов, уменьшении степени осмотического стресса и нейтрализации АФК [Курамшина, 2017]. Индукция синтеза и накопления пролина в растениях под влиянием эндофитных бактерий, а также вовлечение этого осмопротектанта в спектр их защитного действия на растения пшеницы и других культур в условиях засухи было продемонстрировано в многочисленных исследованиях [Lastochkina et al., 2019]. Например, использование *PGPB* стимулировало прирост биомассы и повышал относительное содержание воды (ОСВ) в листьях благодаря аккумуляции пролина в растениях кукурузы при воздействии водного стресса [Sandhya et al., 2010]. Колонизация тканей растений пшеницы эндофитными бактериями *B. subtilis* способствовала увеличению содержания пролина в этих растениях, сопровождавшееся также снижением уровня накопления МДА, и, соответственно, перекисного окисления липидов [Курамшина, 2017].

Эндофитные бактерии могут способствовать защите растений от окислительного стресса в условиях засухи, синтезируя другие осмопротектанты, в частности трегалозу [Lastochkina et al., 2019]. Трегалоза, представляющая собой высокостабильный дисахарид, образованный двумя остатками α -глюкозы, соединенных α -1,1-гликозидной связью, обладает высоко гидрофильными свойствами и способна связывать значительное количество воды внутри клетки, образуя гелевую фазу и снижая тем самым степень вызываемого засухой нарушений метаболизма. Кроме того, трегалоза может предотвращать происходящую в условиях обезвоживания деградацию и агрегацию белков, способствуя тем самым их ренатурации. Роль трегалозы как антиоксиданта была показана в опытах с *Saccharomyces*

cerevisiae, установлена взаимосвязь между степенью ненасыщенности ацильных цепей липидов, микровязкостью липидного бислоя мембран и интенсивностью накопления трегалозы в клетках этих микроорганизмов [Феофилова, 2014]. С использованием модельных систем было показано действие трегалозы в качестве протектора жирных кислот (ЖК). Она значительно снижала свободнорадикальное окисление по месту двойных связей в молекулах полиненасыщенных ЖК, которое выражалось в предотвращении автоокисления и деградации ненасыщенных ЖК с образованием пероксидов и альдегидов [Феофилова, 2014]. В литературе имеются данные о существенном повышении устойчивости разных культурных растений к условиям засухи при их инокуляции сверх-продуцирующими трегалозу штаммами бактерий, а также под влиянием *PGPB*, способных усиливать накопление этого осмопротектанта внутри растительного организма [Suarez et al., 2008; Lastochkina et al., 2019]. Таким образом, суммируя приведенные данные можно заключить, что одним из механизмов, способствующих повышению засухоустойчивости пшеницы эндофитными бактериями, является активация под их влиянием АОС защиты растений и индукция в них синтеза осмолитов, таких как пролин и трегалоза, характеризующихся множественными протекторными свойствами и вовлекаемыми в защиту растений от окислительного стресса.

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена в рамках госзадания (тема № АААА-А16-116020350029-1) при финансовой поддержке грантов РФФИ (№19-016-00035) и Президента РФ (№ МК-643.2019.11).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Егоршина А.А., Хайруллин Р.М., Сахабутдинова А.Р., Лукьянцев М.А. Участие фитогормонов в формировании взаимоотношений проростков пшеницы с эндофитным штаммом *Bacillus subtilis* 11BM // Физиология растений. 2012. Т. 59 (1). С. 148.
2. Колупаев Ю.Е. Антиоксиданты растительной клетки, их роль в АФК-сигналинге и устойчивости растений // Успехи совр. биологии. 2016. Т. 136. С. 181–198.
3. Колупаев Ю.Е., Кокорев А.И. Антиоксидантная система и устойчивость растений к недостатку влаги // Физиология растений и генетика. 2019. Т. 51 (1). С. 28–54. <https://doi.org/10.15407/frg2019.01.028>
4. Кудоярова Г.Р., Курдиш И.К., Мелентьев А.И. Образование фитогормонов почвенными и ризосферными бактериями как фактор стимуляции роста растений // Известия УНЦ РАН. 2011. № 3–4. С. 5–15.
5. Курамшина З.М. Реакции растений на стресс в сообществе с эндофитными представителями *Bacillus subtilis* Cohn: дис... д-ра биол. наук. Башкирский гос. Университет, Уфа, 2017.
6. Максимов И.В., Веселова С.В., Нужная Т.В., и др. Стимулирующие рост растений бактерии в регуляции устойчивости растений к стрессовым факторам // Физиология растений. 2015. Т. 62. С. 763–775. <https://doi.org/10.7868/S0015330315060111>
7. Мартыненко Е.В., Архипова Т.Н. Роль цитокининов в восстановлении роста растений пшеницы при нормализации водообеспечения // Агрохимия. 2010. № 8. С. 35–42.
8. Феофилова Е.П., Усов А.И., Мысякина И.С., Кочкина Г.А. Трегалоза: особенности химического строения, биологические функции и практическое значение // Микробиология. 2014. Т. 83 (3). С. 271–271. <https://doi.org/10.1134/S0026261714020064>
9. Яруллина Д.Р., Асафова Е.В., Картунова Ю.Е., и др. Пробиотики для растений: НО-продуцирующие лактобациллы защищают растения от засухи // Прикл. Биох. Микробиол. 2014. Т. 50 (2). С. 189–192. <https://doi.org/10.7868/S0555109914020196>

10. Carvalho M.H.C. Drought stress and reactive oxygen species // *Plant Signal. Behav.* 2008. V. 3. P. 156–165. <https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5536>
11. Cohen A.C., Bottini R., Pontin M., et al. *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels // *Physiol. Plant.* 2015. V. 153 (1). P. 79–90. <https://doi.org/10.1111/ppl.12221>
12. Hao Y., Wu H., Liu Y., Hu Q. Mitigative effect of *Bacillus subtilis* QM3 on root morphology and resistance enzyme activity of wheat root under lead stress // *Adv. Microbiol.* 2015. V. 5. P. 469–478. <https://doi.org/10.4236/aim.2015.56048>
13. Kasim W.A., Osman M.E., Omar M.N., Abd El-Daim I.A. Control of drought stress in wheat using plant-growth-promoting bacteria // *J. Plant Growth Regul.* 2013. V. 32 (1). P. 122–130. <https://doi.org/10.1007/s00344-012-9283-7>
14. Kaushal M., Wani S.P. Plant-growth-promoting rhizobacteria: drought stress alleviators to ameliorate crop production in drylands // *Ann. Microbiol.* 2015. V. 66. P. 35–42. <https://doi.org/10.1007/s13213-015-1112-3>
15. Khalafallah A.A., Abo-Ghalia H.H. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the metabolic products and activity of antioxidant system in wheat plants subjected to short-term water stress, followed by recovery at different growth stages // *J. Appl. Sci. Res.* 2008. V. 4 (5). P. 559–569.
16. Kohler J., Hernandez J.A., Caravaca F., Roldan A. Induction of antioxidant enzymes is involved in the greater effectiveness of a PGPR versus AM fungi with respect to increasing the tolerance of lettuce to severe salt stress // *Environ. Exp. Bot.* 2009. V. 65. P. 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2008.09.008>
17. Lastochkina O., Aliniaiefard S., Seifikalhor M., et al. Plant Growth-Promoting Bacteria: Biotic Strategy to Cope with Abiotic Stresses in Wheat. In: *Wheat Production in Changing Environments*. Ed. by M. Hasanuzzaman, K. Nahar, Md. A. Hossain. Springer, Singapore. 2019. P. 579–614. https://doi.org/10.1007/978-981-13-6883-7_23
18. Lastochkina O., Pusenkova L., Yuldashev R., Babaev M., Garipova S., Blagova D., Khairullin R., Aliniaiefard S. Effects of *Bacillus subtilis* on some physiological and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. (wheat) under salinity // *Plant Physiol. Biochem.* 2017. V. 121. P. 80–88. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.10.020>
19. Osakabe Y., Osakabe K., Shinozaki K., Tran L.S.P. Response of plants to water stress // *Front. Plant Sci.* 2014. V. 5. 86. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00086>
20. Saikia J., Sarma R.K., Dhandia R., et al. Alleviation of drought stress in pulse crops with ACC deaminase producing rhizobacteria isolated from acidic soil of Northeast India // *Sci. Rep.* 2018. V. 8 (1). P. 3560–3576. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21921-w>
21. Sandhya V., Ali S.Z., Grover M., et al. Effect of plant growth promoting *Pseudomonas spp.* on compatible solutes antioxidant status and plant growth of maize under drought stress // *J. Plant Growth Regul.* 2010. V. 62. P. 21–30. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9479-4>
22. Sgroy V., Casson F., Masciarelli O., et al. Isolation and characterization of endophytic plant growth promoting (PGPB) or stress homeostasis regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera* // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2009. V. 85. P. 371–381. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2116-3>
23. Suarez R., Wong A., Ramirez M., et al. Improvement of drought tolerance and grain yield in common bean by over expressing trehalose 6-phosphate synthase in rhizobia // *Mol. Plant Microb. Interact.* 2008. V. 21. P. 958–966. <https://doi.org/10.1094/MPMI-21-7-0958>
24. Ullah S., Bano A. Isolation of plant-growth-promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of halophytes and their impact on maize (*Zea mays* L.) under induced soil salinity // *Can. J. Microbiol.* 2015. V. 61 (4). P. 307–313. <https://doi.org/10.1139/cjm-2014-0668>